

Aus dem Institut für Veterinär-Biochemie des Fachbereiches Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

(Direktor: Professor Dr. Dr. K. Drepper)

DIE FETTSÄURENMUSTER DES DEPOTFETTS
VERSCHIEDENER KÖRPERREGIONEN DES
PFERDES SOWIE DAS VERHALTEN EINZEL-
NER FETTSÄUREN WÄHREND DER MOBILI-
SATION DES DEPOTFETTGEWEBES IN VITRO

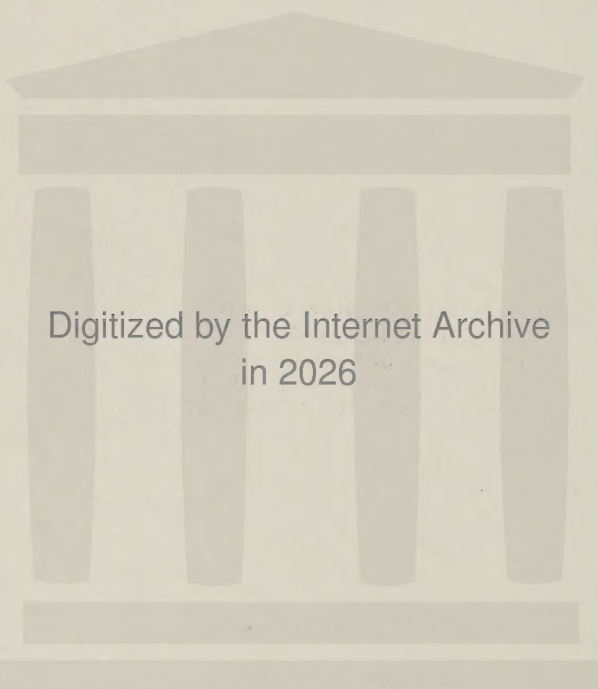
Inaugural - Dissertation

zur Erlangung des Grades
eines Doktors der Veterinärmedizin
an der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Wolfgang Lingk
Tierarzt aus Berlin
Berlin 1971

Journal-Nr. 7 3 1



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus dem Institut für Veterinär-Biochemie des Fachbereiches Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

(Direktor: Professor Dr. Dr. K. Drepper)

DIE FETTSÄURENMUSTER DES DEPOTFETTS
VERSCHIEDENER KÖRPERREGIONEN DES
PFERDES SOWIE DAS VERHALTEN EINZEL-
NER FETTSÄUREN WÄHREND DER MOBILI-
SATION DES DEPOTFETTGEWEBES IN VITRO

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung des Grades
eines Doktors der Veterinärmedizin
an der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Wolfgang Lingk
Tierarzt aus Berlin
Berlin 1971

Journal-Nr. 731

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereiches Veterinärmedizin der

Freien Universität Berlin

Vorsitzender des Fachbereichsrats
Veterinärmedizin:

Prof. Dr. J. Boch

Referent:

Prof. Dr. Dr. K. Drepper

Korreferent:

Prof. Dr. K. Bronsch

Tag der mündlichen Prüfung: 11. 2. 1971



Inhaltsverzeichnis	Seite
EINLEITUNG	1
MATERIAL UND METHODIK	4
I. Bestimmung der Fettsäurezusammensetzung des Depotfetts	4
II. In Vitro Bestimmung der Freisetzung von Fettsäuren aus Depotfettgewebe	7
III. In Vitro Bestimmung der Resyntheserate der einzelnen Fettsäuren	8
VORVERSUCHE	9
ERGEBNISSE	12
I. Die Fettsäurezusammensetzung des Depotfetts in den verschiedenen Körperregionen	12
II. In Vitro Untersuchungen	12
DISKUSSION	19
ZUSAMMENFASSUNG	22
LITERATURVERZEICHNIS	23

EINLEITUNG

Bei der Mobilisation des Depotfettgewebes werden Fettsäuren und Glycerin an das Blut abgegeben. Die freien Fettsäuren (FFS) werden an das Plasmaalbumin gebunden. Diese Plasma-FFS stellen die einzige Transportform der Fettsäuren aus dem Depotfettgewebe zur Peripherie dar (GORDON und CHERKES, 1956).

Lipolyse - die Freisetzung der Fettsäuren durch enzymatische Hydrolyse des Triglycerids - und Resynthese - die Wiederveresterung der Fettsäuren mit L- α - Glycerophosphat - bestimmen die Gesamtkonzentration der FFS des Plasmas (STEINBERG, 1963). Beide Reaktionen - Lipolyse und Resynthese - sind hormon- und substratabhängig. Lipolytisch wirksame Hormone, besonders die Catecholamine, bewirken einen Anstieg der Gesamtkonzentration der Plasmafettsäuren; Glucose und Insulin dagegen einen Abfall der Plasma-FFS (RUDMAN, 1963; JEANRENAUD, 1961).

Die Aussagen über die qualitative Zusammensetzung der Plasma-FFS im Vergleich zu den Triglyceridfettsäuren (TGFS) des Depotfettgewebes sind nicht eindeutig (HIRSCH, 1962; ROTHLIN et al., 1962; JACKSON, 1970). WEIK (1969) verglich beim Pferd die prozentuale Zusammensetzung der Depotfett-FS (subperitoneales Bauchfett) mit der der Plasma-FFS. Er fand signifikante Abweichungen für Myristin-, Oel-, Palmitolein- und Linolensäure. WEIK und ALTMANN untersuchten beim Pferd die Änderungen in der Zusammensetzung der Plasma-FFS in Abhängigkeit von der Dauer der Nahrungskarenz. Sie fanden in der Stoffwechselsituation des Hungers bei ansteigendem Plasma-FFS-Spiegel ein anderes Muster als postprandial.

Die beim Pferd aufgezeigten Differenzen könnten damit begründet werden, daß die Zusammensetzung des Bauchfetts nicht als repräsentativ für die verschiedenen Depotfettgewebe anzusehen ist; daher sollte es eine Aufgabe dieser

Arbeit sein, die Fettsäurenzusammensetzung des Depotfetts in den verschiedenen Körperregionen beim Pferd zu bestimmen.

Differenzen in der prozentualen Fettsäurenzusammensetzung zwischen Plasma-FFS und Depotfett-FS könnten darüberhinaus sowohl durch eine selektive Abgabe von Fettsäuren aus dem Depotfettgewebe als auch durch eine selektive Verstoffwechselung (GÖRANSSON et al., 1964, 1965) einzelner Fettsäuren in der Peripherie eine Erklärung finden.

Das Verhältnis der freigesetzten Fettsäuren zu den TGFS des Depotfetts nach Inkubation von Fettgewebe ohne Hormonzusatz wurde in mehreren Arbeiten beim Nebenhodenfettgewebe der Ratte untersucht: SPITZER et al. (1966) und NAKAMURA et al. (1966) fanden eine proportionale Freisetzung der TGFS des Depotfetts. STEIN et al. (1962) untersuchten Palmitin-, Oel- und Linolsäure im Depotfett und im Inkubationsmedium und fanden gleiche prozentuale Anteile dieser Fettsäuren.

MEINERTZ (1963) dagegen fand nach Inkubation bei Adrenalinzugabe einen relativ höheren Anteil an Palmitin- und Oelsäure im Inkubationsmedium; HOLLENBERG und DOUGLAS (1962) ermittelten einen höheren Anteil an Palmitin- und Palmitoleinsäure, einen niedrigeren Anteil dagegen an Oel- und Linolsäure nach Lipaseaktivierung durch Noradrenalin und Corticotropin.

In einer neueren Arbeit untersuchten HUNTER et al. (1970) bei Ratten am Nebenhodenfettgewebe das Freisetzungsmuster bei Spontanlipolyse, bei noradrenalin-stimulierter Lipolyse sowie die Fettsäurenzusammensetzung der FFS des Plasmas und der TGFS des Depotfetts. Spontanlipolyse und noradrenalin-stimulierte Lipolyse bewirkten unterschiedliche FFS-Muster in den Inkubationsmedien. Beide Freisetzungsmuster differierten vom TGFS-Muster des Depotfetts.

Da entsprechende Untersuchungen beim Pferd nicht vorliegen, sollte in der vorliegenden Arbeit geklärt werden, ob die beim Pferd gefundenen Unterschiede zwischen Plasma-FFS und Depotfett-TGFS auch dadurch bedingt sein könnten, daß die Fettsäuren vom Depotfettgewebe nicht proportional ihrem Gehalt in den Triglyceriden freigesetzt werden. Zu diesem Zweck sollten die FFS-Muster bestimmt werden, die bei unterschiedlichen Stoffwechselsituationen nach 30-stündigem Hungern der Versuchstiere sowie 3 Stunden nach der letzten Fütterung im Plasma auftreten, bzw. bei Inkubation von Fettgewebe (ohne und mit Noradrenalinzusatz) an ein albuminhaltiges Medium abgegeben werden.

Weiterhin sollte festgestellt werden, ob bestimmte Fettsäuren bevorzugt zur Resynthese von Depotfett herangezogen werden, was eine verminderte Abgabe dieser Fettsäuren an das Medium zur Folge haben könnte.

MATERIAL UND METHODIK

I. Bestimmung der Fettsäurezusammensetzung des Depotfetts

a) Probenentnahme

Depotfettproben wurden klinisch gesunden Schlachtpferden (Warm- und Kaltblutpferden) direkt nach der Schlachtung aus verschiedenen Körperregionen entnommen :

- Subcutanes Fettgewebe (Widerrist)
- Subcutanes Fettgewebe (Flanke)
- Subperitoneales Fettgewebe (Bauchwand)
- Gekrösefett (kraniale Gekrösewurzel)
- Perirenales Fettgewebe
- Herzkranzfurchenfett
- Knochenmarksfett

b) Darstellung der Fettsäuremethylester

Die entnommenen Proben wurden nach FOLCH et al. (1951) extrahiert und mit 0,05-prozentiger Schwefelsäure gewaschen. Die Fettsäuremethylester wurden mit 5-prozentiger methanolischer Schwefelsäure aus dem zur Trockne eingegangenen Lipidextrakt dargestellt (ZÖLLNER und EBERHAGEN, 1965).

Eine dünnschichtchromatographische Abtrennung der Triglyceride mit anschließender Methylesterdarstellung ergab gegenüber der direkten Umesterung des gesamten Lipidextraktes keine Unterschiede in der prozentualen Fettsäurezusammensetzung. Somit konnte bei allen weiteren Untersuchungen auf eine Isolierung der Triglyceride vor der Umesterung verzichtet werden.

Die Fettsäuremethylester wurden ohne Lösungsmittel für die gaschromatographische Analyse verwendet.

c) Gaschromatographie

Für die gaschromatographische Auftrennung der Fettsäurenmethylester stand ein 2-Säulengerät der Firma PACKARD (Serie 7400) mit Flammenionisationsdetektoren zur Verfügung:

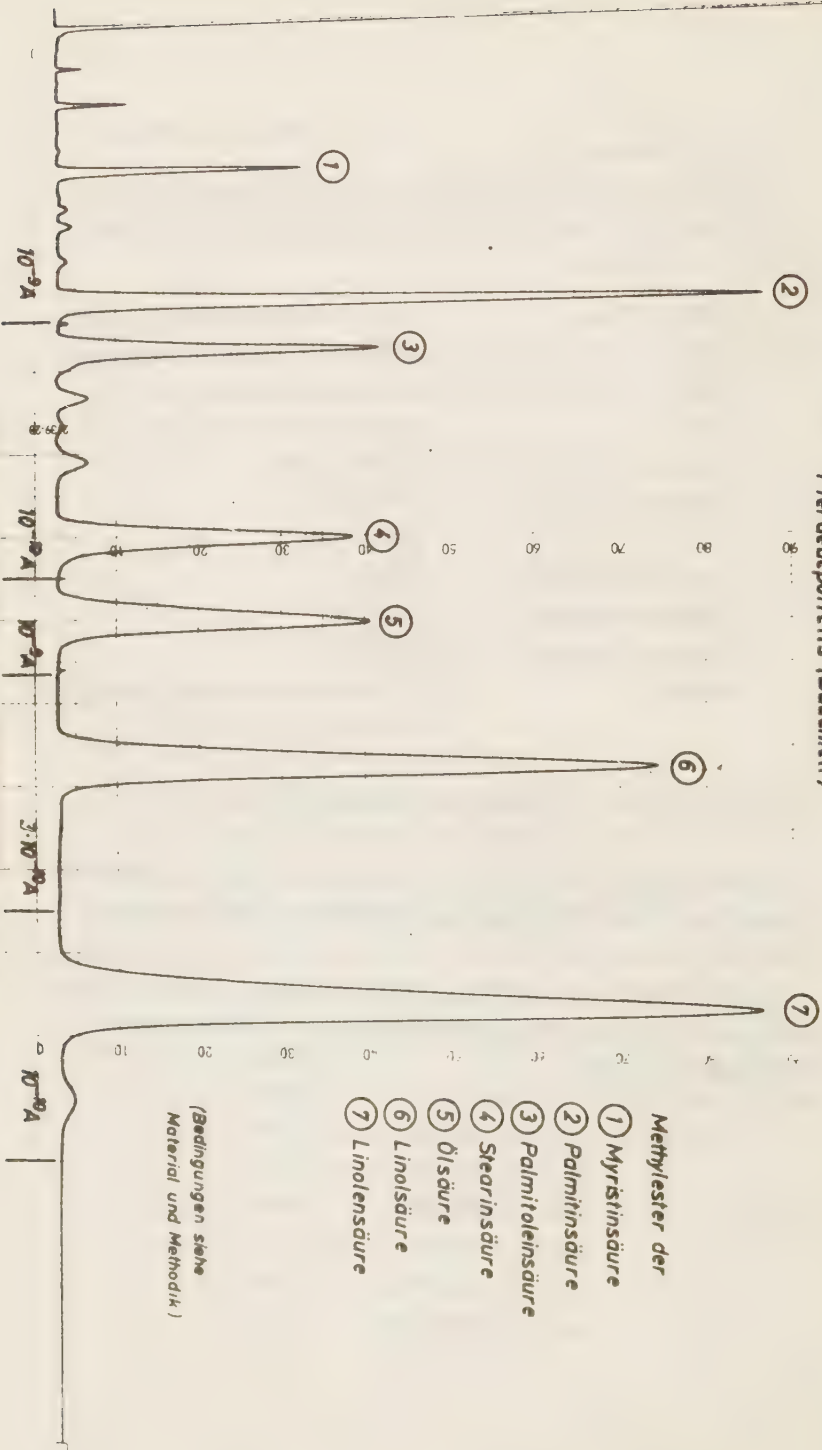
Stationäre Phase:	10 % EGSSX auf Gas-Chrom P, 100-200 Mesh (Firma Applied Science Laboratories, State College, Pa., USA)
Säule:	Länge 4 m, Durchmesser 1/8 "
Trägergas:	12 ml N ₂ / min
Wasserstoff:	22 ml / min
Luft:	250 ml / min
Temperatur Säulenofen:	180 ° C
Temperatur Injektor:	260 ° C
Temperatur Detektor:	230 ° C
Schreiber:	Kompensationsschreiber der Firma HONEYWELL (Modell: Elektronik 16)

Die Auftrennung der untersuchten Fettsäurenmethylester gibt Abb. I wieder.

Die Auswertung der Chromatogramme erfolgte über die Messung der Peakhöhe multipliziert mit der Breite in der halben Höhe (BALL, 1968). Der prozentuale Flächeninhalt wurde mit Hilfe eines Faktors auf Gewichtsprozente umgerechnet (KAISER, 1964). Die Faktoren für die einzelnen Fettsäuren wurden mit Hilfe eines Testgemisches folgender gaschromatographisch reiner Fettsäurenmethylester ermittelt:

Myristinsäuremethylester	14:0
Palmitinsäuremethylester	18:0
Palmitoleinsäuremethylester	16:1
Stearinsäuremethylester	18:0
Oelsäuremethylester	18:1
Linolsäuremethylester	18:2
Linolensäuremethylester	18:3

Abb. 1 Fettsäuremethylester des
Pferdedepofetis (Bauchfett)



(Bedingungen siehe
Material und Methodik)

(Die Methylester der Myristin-, Palmitolein- und Linolsäure wurden durch die Firma Applied Science Laboratories, State College, Pa., USA bezogen, die übrigen durch die Firma E. Merck.)

Die Untersuchungen wurden auf diese sieben Fettsäuren beschränkt; nach WEIK und DREPPER (1969) beträgt ihr Anteil beim Pferd 97 % der Depotfett-TGFS.

II. In Vitro Bestimmung der Freisetzung von Fettsäuren aus Depotfettgewebe

a) Probenentnahme

Subperitoneales Bauchfettgewebe und Mischblutproben wurden klinisch gesunden Pferden 30, bzw. 3 Stunden nach der letzten Futteraufnahme direkt nach der Tötung, während des Ausblutens, entnommen. Die Mischblutproben wurden durch Zusatz von 1 ml 10-prozentiger EDTA-Lösung je 100 ml Blut ungerinnbar gemacht; die Depotfettproben wurden in einem Dewar-Gefäß bei 37 ° C ins Labor gebracht und sofort der Aufarbeitung zugeführt (Beginn der Extraktion, bzw. Inkubation der aus den Zentren größerer Fettstückchen entnommenen Proben ca. 30 Minuten nach der Tötung der Pferde) .

b) Inkubationsansätze

Zur Ermittlung der Freisetzungsmuster wurden 2 g Fettgewebe in 50-100 mg schweren Stücken in 20 ml Inkubationsmedium 1 Stunde lang bei 37 ° C und einer Schüttelfrequenz von 80-85/min im Warburgapparat inkubiert. Die Gasphase über dem Inkubationsmedium war Luft. Die Zusammensetzung des Inkubationsmediums war (KREBS et al., 1964) :

100 ml 0.9 % NaCl	(0.154 M)
4 ml 1.15 % KCl	(0.154 M)
1 ml 2.11 % KH_2PO_4	(0.154 M)
1 ml 3.82 % $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	(0.154 M)
20 ml 1.78 % $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (pH 7.4)	(0.154 M)

Der Albuminzusatz (Rinderserumalbumin, HD 20, Firma Behring-Werke)
betrug 40 mg/ml Phosphatpuffer.

Nach Beendigung der Inkubation wurde das Medium mit Isopropanol/n-Heptan/
1 n H₂SO₄ (80:20:1 V:V:V) (DOLE, 1956) extrahiert. Aus dem Extrakt wurden
die FFS dünnenschichtchromatographisch isoliert (Kieselgel HR, E. Merck;
Fließmittel: Petroläther/Diäthyläther/Eisessig, 80:20:1 V:V:V). Die FFS
wurden mit 5-prozentiger methanolischer Schwefelsäure in ihre Methylester
übergeführt (ZÖLLNER, EBERHAGEN, 1965).

In einem aliquoten Anteil des Mediums der beschriebenen Inkubationsansätze
wurde die Menge der freigesetzten Fettsäuren titrimetrisch bestimmt (KO et al.,
1967).

Die qualitative und quantitative Ermittlung der FFS im Plasma erfolgte ent-
sprechend den für die Medium-FFS beschriebenen Methoden.

Bei den Pferden, die 3 Stunden nach der letzten Fütterung geschlachtet wurden,
erfolgten Parallelinkubationen (15 Minuten) unter Zusatz von 10 µg Noradre-
nalin (L-Noradrenalin, Arterenol, Firma Hoechst) je ml Medium mit nach-
folgender Bestimmung des FFS-Musters im Inkubationsmedium.

III. In Vitro Bestimmung der Resyntheserate der einzelnen Fettsäuren

a) Probenentnahme

wie unter II a) beschrieben

b) Inkubationsansätze

5 g Fettgewebe wurden in ca. 100 mg schweren Stücken in 50 ml Phosphatpuffer (pH 7.4) ohne Albuminzusatz mit Noradrenalin (10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ Puffer) 30 Minuten bei 37 °C und einer Schüttelfrequenz von 40/min vorinkubiert.

2.5 g des vorinkubierten Fettgewebes wurden anschließend in 25 ml Phosphatpuffer (pH 7.4) mit Glucose - (1.8 mg/ml) und Insulinzusatz (10 mE/ml) 90 Minuten inkubiert.

Das Fettgewebe beider Ansätze wurde mit Isopropanol/n-Heptan/1 n H_2SO_4 40:10:1 V:V:V extrahiert (DOLE, 1956). Die Titration der freien Fettsäuren und die gaschromatographische Bestimmung ihrer Zusammensetzung erfolgte wie bereits beschrieben.

VORVERSUCHE

1. Das den Inkubationsansätzen zugesetzte Albumin (Rinderserumalbumin HD 20, Firma Behring-Werke) wurde in der von CHEN (1967) beschriebenen Weise von Fettsäuren gereinigt. Die Reinigung erfolgte durch Adsorption der Fettsäuren an Holzkohle im sauren pH-Bereich (pH 3.0). Titrimetrisch konnten nach Vorbehandlung keine Fettsäuren mehr nachgewiesen werden.

Ob Spuren von titrimetrisch nicht erfaßbaren Fettsäuren das Inkubationsergebnis beeinträchtigen können, wurde im folgenden Versuch überprüft: Eine Fettsäuremischung bekannter Zusammensetzung wurde in Phosphatpuffer (pH 7.4) mit 4 % Albuminzusatz 1 Stunde bei 37 °C inkubiert (Fettsäurenkonzentration 0.5 $\mu\text{Eq}/\text{ml}$ Puffer).

Die ursprüngliche Zusammensetzung der Fettsäuremischung und ihre Zusammensetzung nach Inkubation sind aus Tabelle I zu ersehen.

TABELLE 1 DER EINFLUSS VON VORBEHANDELTEN RINDERSERUM -
ALBUMIN WÄHREND DER INKUBATION AUF DIE ZU -
SAMMENSETZUNG EINES FETTSÄURENGEMISCHES +)

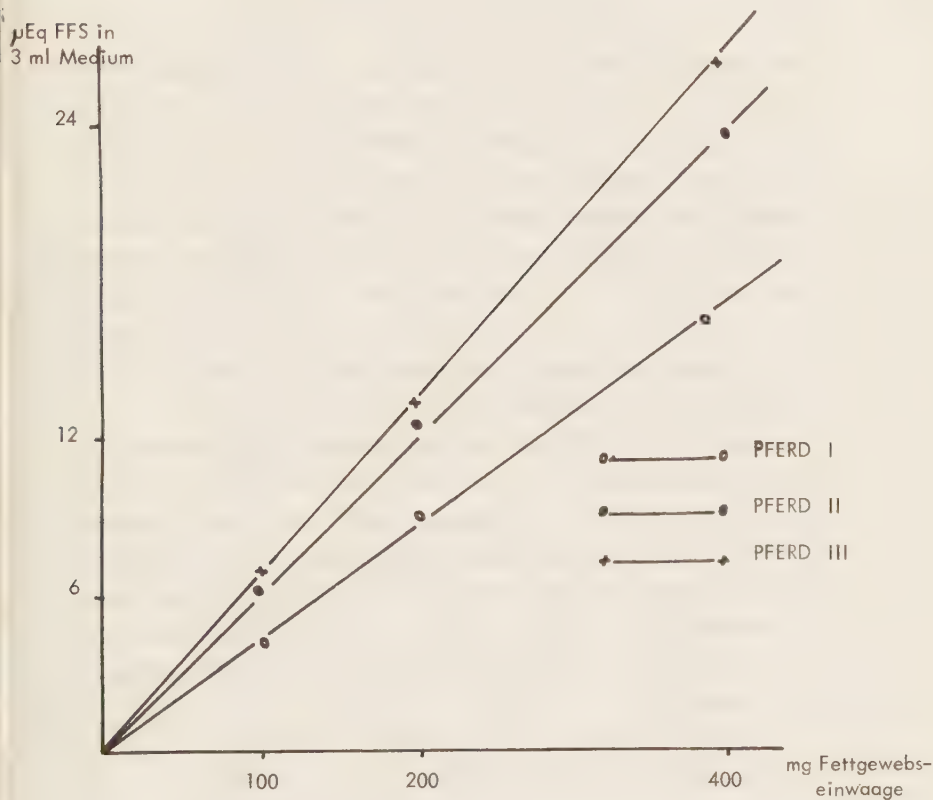
Fettsäuren	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3
Zusammensetzung des Fettsäurenge- mischtes	10.9	4.7	24.2	52.4	7.8
Zusammensetzung des Fettsäurenge- mischtes nach In- kubation	12.3	5.1	22.6	52.0	8.0

+) Angaben in Gewichtsprozenten, die angegebenen Werte sind Mittelwerte
aus Doppelbestimmungen

Die aufgezeigten Differenzen entsprechen dem Gesamtfehler des Analysenganges.

11. Zur Überprüfung der Akzeptorkapazität des vorbehandelten Albumins für
freie Fettsäuren während der Inkubation wurde die Abhängigkeit der Gesamt-
freisetzungsrates an FFS bei steigenden Fettgewebseinwaagen (Feuchtgewicht)
untersucht (Abb. 1).

Abb II GESAMTFREISETZUNGSRATE AN FFS AUS FETTGEBEWSPROBEN
NACH INKUBATION MIT 3 ml ALBUMINHALTIGEM PUFFER BEI
STEIGENDEN FETTGEBEWSEINWAAGEN (MITTELWERTE AUS
DOPPELBESTIMMUNGEN)



Aus dem linearen Verlauf der Kurven kann auf eine ausreichende Kapazität des vorgereinigten Albumins für die Bindung der während der Inkubation freigesetzten Fettsäuren bei den verwendeten Einwaagen geschlossen werden.

ERGEBNISSE

I. Die Fettsäurezusammensetzung des Depotfetts in den verschiedenen Körperregionen

Die Fettsäurezusammensetzung des Depotfetts in den verschiedenen Körperregionen ist in Tabelle II zusammengefaßt. Daraus geht hervor, daß sich die Gehalte der untersuchten Fettsäuren innerhalb desselben Versuchstiers in den verschiedenen Depotfettproben nur geringfügig unterschieden.

Tabelle III gibt die prozentualen Anteile der Summe der gesättigten und der Summe der ungesättigten Fettsäuren wieder. Für die verschiedenen Depotfettregionen ergaben sich nur geringe Unterschiede bei einer kleinen Standardabweichung. Das subperitoneale Fettgewebe wies mit durchschnittlich 65.0 % den niedrigsten Anteil, das Knochenmarksfett mit durchschnittlich 71.3 % den höchsten Anteil an ungesättigten Fettsäuren auf.

Die prozentualen Anteile der Linol- und Linolensäuregehalte differierten zwischen den einzelnen Tieren sehr stark. Bei 27 untersuchten Tieren lag im Bauchfettgewebe der maximale Linolensäuregehalt bei 20.1 %, der minimale bei 2.5 %. Der maximale Linolsäuregehalt betrug 30.6 %, der minimale 6.8 %. Errechnet man jedoch für die Summe aus Linol- plus Linolensäure den Minimal- und Maximalwert, so erreicht die Differenz zwischen diesen Extremwerten eine Größenordnung wie sie beispielsweise auch für die Oelsäure zu beobachten ist (Tabelle IV).

II. In Vitro Untersuchungen

Tabelle V gibt den Vergleich zwischen den TGFS des Depotfetts, den an das Medium abgegebenen Fettsäuren und den FFS des Plasmas der Tiere wieder, die 30 Stunden vor der Schlachtung das letzte Futter erhalten hatten. Der Gehalt an Stearinsäure war im Medium signifikant höher als in den TGFS des Gewebes, der Gehalt an Linolsäure dagegen signifikant niedriger (t-Test, $p < 0.01$).

TABELLE II

DIE FETTSÄURENZUSAMMENSETZUNG DES DEPOTFETTS VON PFERDEN

IN DEN VERSCHIEDENEN KÖRPERREGIONEN

(Angaben in Gewichtsprozenten der untersuchten Fettsäuren; Mittelwerte aus 10 Tieren⁺)

Fettsäure	Subcutanes Fettgewebe Widerrist	Subcutanes Fettgewebe Flanke	Subperitoneales Fettgewebe Bauchwand	Gekrösefett (kraniale Gekrösewurzel)	Perirenales Fettgewebe	Herzkranz- Furchenfett	Knochenmarks- fett
14:0	4,6 ± 0,59 (3,3 - 5,5)	4,8 ± 0,75 (3,5 - 5,8)	4,5 ± 0,53 (3,6 - 5,3)	4,1 ± 0,41 (3,7 - 4,8)	4,6 ± 0,69 (3,6 - 5,5)	4,2 ± 1,16 (3,0 - 6,8)	3,9 ± 1,54 (2,3 - 7,6)
16:0	24,0 ± 2,29 (20,0 - 27,7)	24,1 ± 1,95 (21,9 - 27,2)	25,1 ± 2,75 (20,5 - 28,6)	23,3 ± 1,99 (21,5 - 25,9)	24,3 ± 2,65 (20,5 - 29,1)	24,2 ± 3,45 (18,4 - 30,5)	22,2 ± 2,47 (19,3 - 26,5)
16:1	6,7 ± 1,65 (4,4 - 9,6)	7,2 ± 1,84 (4,4 - 10,8)	4,3 ± 0,70 (3,2 - 5,2)	5,2 ± 1,21 (3,3 - 7,0)	4,3 ± 0,71 (2,9 - 5,4)	3,6 ± 0,83 (2,5 - 5,4)	8,1 ± 1,78 (6,2 - 11,2)
18:0	3,9 ± 0,48 (3,0 - 4,7)	3,7 ± 0,85 (2,7 - 5,5)	5,4 ± 0,82 (3,8 - 6,7)	4,6 ± 0,88 (3,3 - 5,7)	5,1 ± 0,96 (3,6 - 6,7)	5,1 ± 0,90 (4,0 - 6,6)	2,6 ± 0,95 (1,7 - 4,3)
18:1	32,9 ± 3,15 (26,2 - 37,8)	32,3 ± 2,68 (27,4 - 35,4)	30,8 ± 3,76 (23,4 - 37,4)	32,9 ± 2,75 (26,6 - 35,5)	30,1 ± 3,22 (24,6 - 34,6)	27,9 ± 4,69 (20,4 - 35,1)	32,0 ± 2,41 (27,3 - 36,0)
18:2	21,3 ± 4,77 (14,0 - 26,6)	20,9 ± 4,85 (14,0 - 28,4)	22,8 ± 4,88 (14,5 - 30,6)	23,0 ± 5,16 (16,0 - 31,0)	24,3 ± 5,33 (15,5 - 32,6)	25,5 ± 5,61 (13,9 - 32,0)	23,0 ± 4,44 (15,5 - 29,9)
18:3	6,6 ± 4,94 (2,5 - 18,8)	7,0 ± 5,11 (2,9 - 18,3)	7,1 ± 5,35 (3,0 - 18,4)	6,9 ± 4,72 (3,2 - 18,3)	7,3 ± 5,20 (3,2 - 19,5)	9,5 ± 6,45 (3,7 - 23,9)	8,2 ± 3,47 (4,2 - 19,9)

⁺) Mittelwerte ± Standardabweichung
(Minimalwerte - Maximalwerte)

TABELLE III ANTEILE DER UNGESÄTTIGTEN UND GESÄTTIGTEN FETTSÄUREN IM DEPOTFETT VON PFERDEN
(Angaben in Gewichtsprozenten ; Mittelwerte aus 10 Tieren ⁺)

Fettsäuren (FS)	Subcutanes Fettgewebe Widerrist	Subcutanes Fettgewebe Flanke	Subperitoneales Fettgewebe Bauchwand	Gekrösefett (kraniale Gekrösewurzel)	Perirenales Fettgewebe	Herzkranz- Furchenfett	Knochenmarks- fett
Anteil der ungesättigten FS	67.5 ± 2.8	67.4 ± 2.9	65.0 ± 3.9	68.0 ± 2.9	66.0 ± 3.5	65.5 ± 5.0	71.3 ± 4.1
Anteil der gesättigten FS	32.5 ± 2.9	32.6 ± 2.9	35.0 ± 2.9	32.0 ± 2.9	34.0 ± 3.5	34.5 ± 4.1	28.7 ± 4.1
Verhältnis der ungesättigten FS zu den gesättigten FS	2.08	2.07	1.86	2.12	1.94	1.90	2.48

+) Mittelwerte ± Standardabweichung

TABELLE IV MITTELWERTE, EXTREMWERTE UND STANDARDABWEICHUNGEN DER LINOLSÄURE, LINOLENSÄURE, OELSÄURE UND DER SUMME AUS LINOL- PLUS LINOLENSÄURE
[Subperitoneales Fettgewebe (Bauchwand)]⁺

Fettsäure	18 : 2	18 : 3	18:2 plus 18:3	18 : 1
Mittelwerte $\pm$ Standardab- weichung	21.3 $\pm$ 4.77	7.0 $\pm$ 4.94	27.8 $\pm$ 3.51	31.5 $\pm$ 3.52
Minimalwerte - Maximalwerte	6.8 - 30.6	2.5 - 20.1	21.1 - 33.1	21.4 - 35.3

+) Angaben in Gewichtsprozenten der untersuchten Fettsäuren
Mittelwerte aus 27 Tieren

Alle übrigen Fettsäuren unterschieden sich in ihren prozentualen Anteilen zwischen Medium-FFS und TGFS des Gewebes nicht. Stellt man das Muster der Medium-FFS dem Muster der Plasma-FFS gegenüber, so zeigt es sich, daß die prozentualen Anteile der Palmitin-, Palmitolein-, Stearin- und Linolensäure in beiden Mustern gleich groß waren; während bei der Myristin-, Oel- und Linolsäure eine Übereinstimmung nicht vorlag.

In Tabelle VI sind die Daten von den Tieren aufgeführt, bei denen der Abstand zwischen letzter Fütterung und Tötung 3 Stunden betragen hatte. Die Relationen zwischen den FFS des Mediums und den TGFS des Gewebes waren nach Spontanlipolyse die gleichen, wie bei Tieren, die 30 Stunden fasteten. Wurde die Lipolyse durch Noradrenalin beschleunigt, so erfuhren die prozentualen Palmitin- und Stearinsäureanteile im Medium eine Zunahme gegenüber der spontanen Lipolyse, die Oel- und Linolsäureanteile eine Abnahme. Bemerkenswert erscheint

die Tatsache, daß bei diesen Versuchstieren die Zusammensetzung der FFS des Plasmas von der Zusammensetzung der FFS des Mediums anders geartete Abweichungen zeigte, als es bei der ausgenüchternen Versuchsgruppe (Tabelle V) der Fall war.

TABELLE V TRIGLYCERIDFETTSÄUREN (TGFS) DES DEPOTFETTS, FREIE FETTSÄUREN (FFS) IM INKUBATIONSMEDIUM UND FFS IM PLASMA VON PFERDEN

(Werte der 30 Stunden nach der letzten Fütterung geschlachteten Pferde; Angaben in Gewichtsprozenten der untersuchten Fettsäuren; Mittelwerte aus 7 Tieren⁺)

Fettsäure	TGFS (Depotfett)	Medium-FFS	Plasma-FFS
14:0	4.4 ± 0.9 (3.2 - 6.2)	3.4 ± 1.1 (2.1 - 5.3)	1.9 ± 1.0 (1.0 - 3.9)
16:0	25.6 ± 1.7 (23.6 - 28.6)	26.9 ± 3.3 (21.9 - 33.0)	25.2 ± 3.8 (22.0 - 32.6)
16:1	4.2 ± 1.1 (3.2 - 6.0)	4.4 ± 1.2 (2.7 - 5.7)	5.0 ± 1.4 (3.6 - 7.2)
18:0	4.9 ± 0.6 (4.0 - 5.6)	10.0 ± 2.5 (7.3 - 15.1)	9.3 ± 2.6 (5.9 - 12.6)
18:1	33.3 ± 1.2 (31.4 - 35.3)	34.4 ± 3.0 (30.8 - 39.1)	30.5 ± 4.7 (23.2 - 36.1)
18:2	22.0 ± 5.8 (10.2 - 29.0)	16.7 ± 4.7 (8.7 - 21.9)	21.2 ± 5.8 (10.5 - 28.1)
18:3	5.6 ± 3.5 (2.9 - 12.9)	4.2 ± 2.3 (2.4 - 9.2)	6.9 ± 3.7 (3.0 - 12.2)

Medium FFS Gesamtfreisetzungsrate = 6.5 ± 1.4 µEq/g Fettgew.
Plasma FFS = 0.6 ± 0.1 mval/l

⁺) Mittelwerte ± Standardabweichung
(Minimalwerte - Maximalwerte)

TABELLE VI TRIGLYCERIDFETTSÄUREN (TGFS) DES DEPOTFETTS, FREIE FETTSÄUREN (FFS) IM INKUBATIONSMEDIUM, FREIE FETTSÄUREN (FFS) IM INKUBATIONSMEDIUM PLUS NORADRENALIN UND FFS IM PLASMA

(Werte der 3 Stunden nach der letzten Fütterung geschlachteten Pferde; Angaben in Gewichtsprozenten der untersuchten Fettsäuren; Mittelwerte aus 7 Tieren ⁺)

Fettsäure	TGFS (Depotfett)	Medium- FFS	Medium-FFS + Noradrenalin	Plasma- FFS
14:0	4.9 ± 0.8 (3.7 - 6.0)	5.0 ± 1.7 (3.7 - 8.8)	5.6 ± 1.6 (4.0 - 8.6)	4.8 ± 1.3 (3.6 - 7.0)
16:0	27.2 ± 3.4 (22.5-32.6)	28.7 ± 2.9 (23.7-31.7)	32.0 ± 3.4 (27.5-38.4)	33.2 ± 3.5 (29.3-38.1)
16:1	4.9 ± 0.9 (3.0 - 6.1)	4.5 ± 0.2 (4.4 - 4.8)	5.4 ± 0.4 (5.0 - 6.2)	4.8 ± 1.3 (3.0 - 6.9)
18:0	4.4 ± 1.1 (3.5 - 6.7)	8.8 ± 3.1 (7.3 - 12.8)	10.9 ± 3.0 (8.9 - 15.6)	12.3 ± 2.1 (9.0 - 14.3)
18:1	32.4 ± 2.7 (26.9-34.2)	32.8 ± 3.7 (27.8-38.6)	28.1 ± 4.6 (20.7-33.3)	22.6 ± 3.0 (18.5-27.9)
18:2	19.9 ± 4.8 (15.7-28.3)	15.6 ± 4.4 (9.4 - 23.6)	12.9 ± 3.3 (7.9 - 18.5)	16.5 ± 4.9 (9.8 - 23.0)
18:3	6.3 ± 3.5 (2.8 - 10.7)	4.6 ± 2.3 (2.6 - 8.0)	5.1 ± 3.4 (2.2 - 11.7)	5.8 ± 3.7 (1.7 - 11.3)

Medium FFS Gesamtfreisetzungsrates = 1.4 ± 0.4 µEq/g Fettgew./h
Medium FFS Gesamtfreisetzungsrates = 10.6 ± 2.5 µEq/g Fettgew./h
(plus Noradrenalin)
Plasma-FFS = 0.1 ± 0.02 mval/l

+) Mittelwerte ± Standardabweichung
(Minimalwerte - Maximalwerte)

TABELLE VII ZUSAMMENSETZUNG DER FREIEN FETTSÄUREN IM DEPOTFETTGeweBE VON PFERDEN NACH VORINKUBATION MIT NORADRENALIN (I) UND NACH GESTEIGERTER REVERESTERUNG (II) DURCH GLUCOSE- UND INSULINZUSATZ

(Angaben in Gewichtsprozenten der untersuchten Fettsäuren, Mittelwerte aus 6 Tieren)

Fettsäure	I	II		
14:0	4.0	3.9		
16:0	29.1	28.6		
16:1	4.5	4.2		
18:0	6.3	7.6	p	0.05
18:1	31.5	32.3		
18:2	16.5	16.0		
18:3	8.1	7.5		

Gesamtkonzentration
der freien Fettsäuren
im Depotfettgewebe
uEq/g Fettgewebe

5.4 2.9

Gesamtveresterungsrate
in %

46.3

Wie sich ein Überwiegen der Triglyceridsynthese über die Lipolyse auf die Zusammensetzung der innerhalb des Fettgewebes angereicherten FFS auswirkt, geht aus Tabelle VII hervor. Die ursprünglich vorhandene FFS-Menge von 5.4 uEq/g Fettgewebe wurde durch die Inkubation des Gewebes mit Glucose plus Insulin auf 2.9 uEq/g Fettgewebe reduziert. Während dieser Verminderung der gesamten FFS-Menge zeigte die freie Stearinsäure eine relative Zunahme um 20.6 %.

DISKUSSION

Die außerordentlich große Schwankungsbreite der Linol- und Linolensäuregehalte, die im Depotfett der einzelnen Tiere beobachtet wurde, war sicher fütterungsbedingt (Tabelle II). In den Graslipiden überwiegt die Linolensäure, in den Haferlipiden die Linolsäure. Daher zeichnet sich das Depotfett von Weidepferden durch einen hohen Linolensäuregehalt aus, während im Depotfett von Pferden, die vorwiegend mit Hafer gefüttert wurden, der Linolensäuregehalt besonders hoch ist (HILDITCH, 1964).

Die von WEIK und DREPPER (1969) geäußerte Vermutung, daß der Pferdeorganismus die Summe aus Linol- und Linolensäure konstant hält, konnte bestätigt werden (Tabelle IV).

Die Fettsäurezusammensetzung des Pferdedepotfetts in den verschiedenen Körperregionen schwankte nur innerhalb geringer Grenzen (Tabelle II). Die gleichen Befunde wurden für den Menschen (HIRSCH, 1962) und für verschiedene Tierspecies (GOLD, 1968; HILDITCH, 1964) erhoben. Der Palmitoleinsäuregehalt war im subcutanen Fettgewebe und im Knochenmark gegenüber den anderen Depotfettregionen geringgradig erhöht; jedoch konnte der von DAHL (1957) für das subcutane Fettgewebe beschriebene extrem hohe Palmitoleinsäureanteil (14.2 %) nicht bestätigt werden.

Die weitgehend einheitliche Zusammensetzung des Depotfetts in den verschiedenen Körperregionen des Pferdes erlaubte es, für die in Vitro Versuche das subperitoneale Bauchfett stellvertretend für das gesamte Depotfettgewebe heranzuziehen.

Nach Inkubation von Fettgewebe, das Pferden 30 Stunden nach der Fütterung entnommen wurde, war der prozentuale Anteil der Stearinsäure an den freien Fettsäuren des Mediums höher, der Anteil der Linolsäure niedriger als deren

Anteile in den Gewebstriglyceriden (Tabelle V). Der gleiche Befund wurde mit Fettgewebe erhoben, das Schlachtpferden 3 Stunden nach der letzten Fütterung entnommen wurde (Tabelle VI).

Diese Ergebnisse lassen den Schluß zu, daß die verschiedenen resorptiven Phasen, in denen die Tiere sich befanden, sich zwar auf die Menge der freigesetzten FS, nicht jedoch auf deren Zusammensetzung auswirken.

Der Zusatz von Noradrenalin zum Inkubationsmedium bewirkte darüberhinaus Abweichungen des FFS-Musters im Medium vom TGFS-Muster des Gewebes: Der Anteil der Stearinsäure an der FFS-Fraktion des Mediums war stärker erhöht, der Linsäureanteil stärker erniedrigt als es während der spontanen Lipolyse beobachtet wurde. Außerdem wurde bei den FFS ein Anstieg des Palmitinsäureanteils und ein Abfall des Ölsäureanteils beobachtet (Tabelle VI).

Die selektive Freisetzung von Fettsäuren aus dem Depotfettgewebe wird von HOLLENBERG et al. (1962) bei der Ratte mit einer unterschiedlichen Verteilung der Fettsäuren am Glycerinmolekül erklärt. Für das Pferd wies BROCKERTHOFF (1966) ebenfalls nach, daß höherkettige, ungesättigte Fettsäuren bevorzugt in der β -Position des Glycerinmoleküls verestert sind. Die Linsäure ist im Pferdedepotfett zu ca. 70 % in der β -Position verestert, Stearin- und Palmitinsäure zu je 10 % (WEIK 1970 a). Die hormonempfindliche Fettgewebslipase spaltet die α -ständigen Fettsäuren ab (BJÖRNTORP, 1962). Die Monoglyceridlipase (KUPIECKI, 1966) ist im Depotfettgewebe zwar nur in geringen Mengen vorhanden, aber ihre Aktivität ist höher als die der hormonempfindlichen Fettgewebslipase, so daß bei spontan ablaufender Lipolyse die hormonempfindliche Lipase das limitierende Enzym ist (VAUGHAN, 1962; VAUGHAN et al. 1964).

Es ist aber denkbar, daß die Aktivität der hormonempfindlichen Lipase infolge der Catecholaminwirkung die Aktivität der Monoglyceridlipase übertrifft, und es somit zu keiner vollständigen Hydrolyse der Triglyceridmoleküle kommt. Das würde bedeuten, daß der Anteil der α -ständigen Fettsäuren an den

freigesetzten Fettsäuren größer wird und somit deren Muster prägt.

Von Interesse in diesem Zusammenhang ist auch, daß nach KUPIECKI (1966) bei Ratten die Monoglyceridlipase eine Spezifität aufweist: 2-Monolinolein wird schneller hydrolytisch gespalten als 2-Monolinolein. Die genannten Eigenschaften der Fettgewebslipasen sind möglicherweise verantwortlich für das im Inkubationsmedium auftretende Fettsäurespektrum, das unter dem Einfluß von Noradrenalin zustande kommt.

Bestehen bleibt jedoch die Frage, welcher Mechanismus der selektiven Freisetzung von Fettsäuren während der spontanen Lipolyse zugrunde liegt. Die Abgabe von Fettsäuren aus dem Gewebe an das Medium ist die Resultierende aus der simultan ablaufenden Lipolyse und Resynthese. Während der Spontanlipolyse kommt es zur vollständigen hydrolytischen Aufspaltung des Triglyceridmoleküls.

Die selektive Abgabe von FS müßte demnach die Folge einer bevorzugten Heranziehung bestimmter Fettsäuren zur Resynthese sein. Die geringe Zunahme des Stearinsäureanteils innerhalb des Fettgewebes nach gesteigerter Resynthese (Tabelle VII) läßt es fraglich erscheinen, ob der hohe Anteil der Stearinsäure im albuminhaltigen Medium allein mit einer Benachteiligung dieser Fettsäure bei der Rezeresterung erklärt werden kann. Auch erscheint es nicht möglich, mit den erzielten Ergebnissen das Verhalten der Linolsäure zu interpretieren.

Bei der Betrachtung der freien Plasmafettsäuren fällt deren unterschiedliche Zusammensetzung während verschiedener resorptiver Phasen (30, bzw. 3 Stunden nach der letzten Fütterung, Tabelle V und VI) auf. Da - wie oben bereits angeführt - bei der Mobilisation des Fettgewebes in jeder resorptiven Phase gleiche Fettsäuremuster freigesetzt werden, müssen die Unterschiede der Plasma-FFS-Zusammensetzung peripher bedingt sein.

ZUSAMMENFASSUNG

Die Fettsäurezusammensetzung des Pferdedepotfetts in verschiedenen Körperregionen wird analysiert und beschrieben. Zwischen den untersuchten Körperregionen bestanden nur geringe Unterschiede in der Fettsäurezusammensetzung.

Während der Inkubation gab das Fettgewebe von ausgenüchternen und gefütterten Pferden das gleiche - von den Triglyceridfettsäuren abweichende - Fettsäurenmuster an das Inkubationsmedium ab. Eine durch Noradrenalin beschleunigte in Vitro-Lipolyse bewirkte eine weitere Verschiebung der Zusammensetzung der an das Medium abgegebenen Fettsäuren.

Das Muster der freien Fettsäuren des Plasmas zeigte bei den ausgenüchternen Tieren anders geartete Abweichungen vom Muster der freien Fettsäuren des Mediums als bei den gefütterten Tieren; da gleiche Fettsäurenmuster in den verschiedenen resorptiven Phasen vom Fettgewebe freigesetzt wurden, müssen die Abweichungen peripher bedingt sein.

LITERATURVERZEICHNIS

- BALL, D. L. 1968, Anal. Chem. 40 : 1113
- BJÖRNTORP, P. und R. H. FURMAN 1962, Amer. J. Physiol. 203 : 316
- BROCKERHOFF, H. 1966, Comp. Biochem. Physiol. 19 : 1
- CHEN, R. F. 1967, J. Biol. Chem. 242 : 173
- DAHL, O. 1957, Acta Chem. scand. 11, 6 : 1073
- DOLE, V. P. 1956, J. Clin. Invest. 35 : 150
- FOLCH, J.; J. ASCOLI; M. LEES; J.A. MEATH und F. N. LE BARON 1951, J. Biol. Chem. 191 : 833
- GÖRANSSON, G. und T. OLIVECRONA 1964, Acta physiol. scand. 62 : 224
- GÖRANSSON, G. und T. OLIVECRONA 1965, Acta physiol. scand. 63 : 121
- GOLD, M. 1968, Lipids Vol. 3. No. 6 : 539
- GORDON, R. S., Jr.; A. CHERKES 1956, J. Clin. Invest. 35 : 206
- HILDITCH, T. P. 1964, The Chemical Constitution of Natural Fats, 4 th ed. Chapman and Hall, London
- HIRSCH, J. 1962, in Adipose Tissue as an Organ, Charles C. Thomas, Springfield, Illinois, USA
- HOLLENBERG, C. H. und D. E. DOUGLAS 1962, Nature, London 193 : 1074
- HUNTER, J. D.; HILAIRE BUCHANAN; E. R. NYE 1970, J. Lipid Res. 11 : 259
- JACKSON, H. D. 1970, J. Nutr. 100 : 201
- JEANRENAUD, B. 1961, Metabolism 10 : 535
- KAISER, R. 1964, Chromatographie in der Gasphase, IV. Teil, Bibliographisches Institut, Mannheim
- KO, H.; M. E. ROYER 1967, Analyt. Biochem. 20 : 205

- KREBS, H.A.; W. BARTLEY;
D.E. GRIFFITHS;
L.A. STOCKEN 1964, in H.M. Rauen Biochemisches Taschen-
buch, II. Teil, Springer-Verlag, Berlin,
Göttingen, Heidelberg, New York
- KUPIECKI, F. P. 1966, J. Lipid Res. 7 : 230
- MEINERTZ, H. 1963, Fed. Proc. 22 : 375
1966, Fed. Proc. 25 : 209
- NAKAMURA, H.;
G. FALUDI;
J. J. SPITZER 1962, Amer. J. Physiol. 203 : 306
- ROTHLIN, M.E.
C. B. ROTHLIN und
V. E. WENDT 1963, J. Lipid Res. 4 : 119
- RUDMAN, D. 1966, Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 122 : 1276
- SPITZER, J.J.; H. NAKAMURA;
M. GOLD; H. ALTSCHULER
und M. LIEBERSON 1962, Biochim. Biophys. Acta 60 : 58
- STEIN, Y. und O. STEIN 1963, in No. 24 The Control of Lipid Meta-
bolism, Academic Press, London und
New York
- STEINBERG, D. 1962, in Adipose Tissue as an Organ, Charles
C. Thomas, Springfield, Illinois, USA
- VAUGHAN, M. 1964, J. Biolog. Chem. 239 : 2
- VAUGHAN, M.;
J. E. BERGER;
D. STEINBERG 1969, Z. Tierphysiol., Tierernährg. u. Futter-
mittelkde. 25 : 65
- WEIK, H. 1970 a, unveröffentlicht
- WEIK, H.; J. ALTMANN Zbl. Vet. Med. A im Druck
- WEIK, H.; K. DREPPER 1969, Zbl. Vet. Med. A 16 : 8
- ZÖLLNER, N. und D. EBER-
HAGEN 1965, in Untersuchung und Bestimmung der
Lipoide im Blut, Springer-Verlag, Berlin,
Heidelberg, New York

Es ist mir eine angenehme Pflicht, Herrn Prof. Dr. Dr. Kraft Drepper, Direktor des Instituts für Veterinär-Biochemie der Freien Universität Berlin, für die Überlassung des Themas, der benötigten Einrichtungen und Materialien sowie für seine Unterstützung der Arbeit meinen herzlichen Dank auszusprechen.

Herrn Dr. Hubert Weik möchte ich besonders für die allseitige Unterstützung und Gewährung eingehender Diskussionen danken.

Lebenslauf

Am 27. Juli 1940 wurde ich als Sohn des Dirigenten Gerhard-Max Lingk und seiner Ehefrau Hildegard geb. Roßbach in Berlin-Charlottenburg geboren.

Ab Herbst 1946 besuchte ich die Volksschule in Berlin-Charlottenburg, wechselte 1954 auf das Gottfried-Keller-Gymnasium über, wo ich im März 1959 das Zeugnis der Reife erhielt. 1959 wurde ich an der Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin immatrikuliert. Nach Aufgabe des Medizinstudiums 1962 arbeitete ich in der Industrie. 1965 wurde ich an der Veterinärmedizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin immatrikuliert und legte im Sommer 1969 das tierärztliche Staatsexamen ab.

Zur Anfertigung meiner Dissertation arbeite ich seither im Institut für Veterinär-Biochemie der Freien Universität Berlin.

